

**МЕТОДИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ПОЛУЧЕНИЮ ИЗ ОБРАЗЦОВ  
НЕНОРМИРОВАННОЙ ПРОМЫШЛЕННОЙ ОРГАНИЧЕСКОЙ ПЫЛИ ЭКСТРАКТОВ,  
ПРИГОДНЫХ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В КАЧЕСТВЕ ТЕСТ-АЛЛЕРГЕНОВ В  
ДИАГНОСТИКЕ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ  
АЛЛЕРГОПАТОЛОГИИ У РАБОТНИКОВ**



**Шевляков В.В., Эрм Г.И., Баранов С.А.  
Лаборатории промышленной токсикологии  
государственного предприятия «НПЦГ», г. Минск**



Для целого ряда промышленной белоксодержащей органической (полные антигены), металлической и химической (в основном гаптены), смешанной пыли как потенциальных аллергенов не установлены научно обоснованные предельно допустимые концентрации в воздухе рабочей зоны (ПДКврз), что не позволяет обеспечить безопасные условия труда и профилактику профессиональной аллергической заболеваемости у работников.

---

По данным Республиканского профпатологического центра ежегодно у **1-3 работающих клинически диагностируется аллергопатология** с предполагаемой их производственной обусловленностью от воздействия, главным образом, ненормированной промышленной пыли биологической природы. Однако установление причинно-следственной связи и подтверждение профессионального характера аллергического заболевания у работников не позволяет отсутствие гигиенических нормативов и контроля их содержания в воздухе производственной среды.



Ведущее вредное аллергическое действие на организм и потенциальную алергоопасность органической пыли, главным образом, определяет содержание в ней белково-антигенного комплекса, что определяет возможность подобранными адекватными способами полно извлечь из нее биологически активные субстанции, в том числе БАК и другие антигенные субстанции (липопротеиды, полисахарады), и использовать в качестве тест-аллергена для этиологической аллергодиагностики у пациента



Подбор рациональных методов экстракции из пыли антигенного комплекса основывается на физико-химических свойствах основного вещества пыли, прежде всего, с учетом жесткости его химической структуры и биологической растворимости (степень растворимости в основной модельной биологической среде – физиологическом растворе).

Выполненными нами исследованиями отдельных видов органической пыли растительного, животного и смешанного происхождения при использовании модельных жидкостей с разными значениями показателя pH установлено максимальное содержание растворимых субстанций пыли в модельных жидкостях с pH 5,8–6,5 (физиологический раствор, водно-солевые растворы и т. п.). Причем, как правило, для видов органической пыли, обладающих достаточно хорошей растворимостью в физиологическом растворе, наиболее эффективным явился способ экстрагирования белково-антигенных комплексов в насыщенный водно-солевой **раствор Соса** (далее – ВСРС) следующего состава: **хлористый натрий – 50 г, однозамещенный фосфат калия – 3,63 г, двухзамещенный фосфат натрия – 14,31 г, растворяемые в 1 л дистиллированной воды**





В экспериментах с образцами пыли птицеводческого и животноводческого производств при различных условиях экстрагирования (при температурах  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  и  $4\text{--}6\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение 1–5 суток) в ВСРС с рН 6,5 установлено, что экстракция растворимых субстанций из пыли с увеличением экспозиции до 3 суток в оптимальной по рН среде возрастает на 90,7 % по сравнению с суточной выдержкой при  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Причем наилучшие результаты получены при соотношении пробы пыли и ВСРС 1 : 5 или 1 : 10 и 3 суточной экстракции при  $4\text{--}6\text{ }^{\circ}\text{C}$ , поскольку в экстрактах из образцов органической пыли животного происхождения содержание растворимой фракции белка, определяемого методом Лоури, достигало максимальных уровней .

Образцы органической пыли в основном находятся в аморфном агрегатном состоянии и контаминированы микробной флорой, то на первом этапе проводят **подготовку отобранных на производствах образцов пыли:**

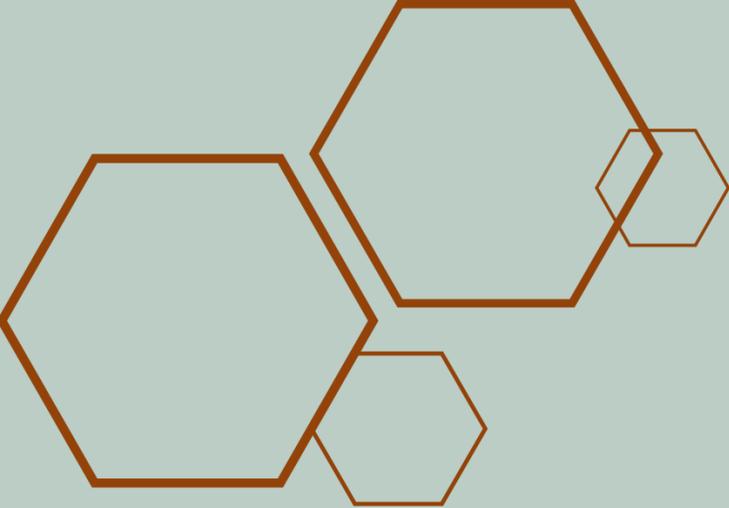
- стерилизацию образцов пыли путем двукратной обработки по 1 часу при температуре 56 °С в регулируемой водяной бане или в суховоздушном инактиваторе с периодическим перемешиванием;
- дополнительное измельчение в кофемолке или истирание в фарфоровой ступке;
- одно- или двукратное обезжиривание ацетоном образцов животного и смешанного происхождения, содержащих в повышенном количестве липиды.

#### **Этап экстрагирования подготовленного образца:**

- готовят пробу суспензии пыли, смешивая в стеклянном стакане (колбе) в соотношении 1 : 10 взвешенного количества подготовленного образца ОП ( $1,00 \pm 0,01$  г) с ВСРС (10 см<sup>3</sup>);
- экстрагируют пробу в течение 1 суток в термостате (37 °С ) и затем 3 суток в холодильнике (6) – (8) °С при периодическом/постоянном перемешивании.

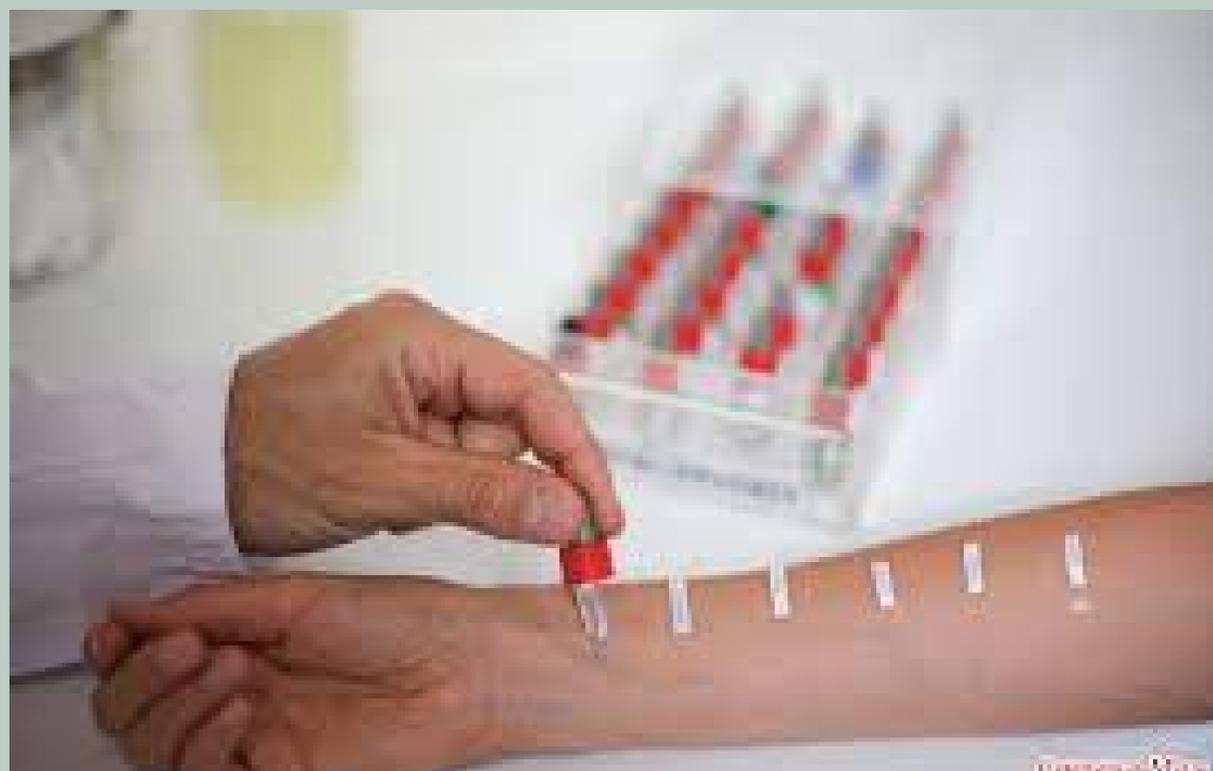
#### **Этап выделения растворимых субстанций, характеристика и хранение экстракта:**

- суспензию пыли после экстрагирования переливают в уравновешенных объемах в полимерные центрифужные пробирки (ПЦП на 6–10 см<sup>3</sup>) и центрифугируют при 6 тыс. об/мин в течение 20 мин, отбирают супернатанты в чистые ПЦП и подвергают повторному центрифугированию при 6 тыс. об/мин в течение 30 мин, супернатанты отбирают в стеклянный стакан и перемешивают.
- количественно характеризуют экстракт по содержанию белка (в мг/см<sup>3</sup>), определяемого методом Лоури при длине волны 750 нм, используя для построения градуировочного графика бычий сывороточный альбумин;
- экстракт разливают по 1–2 см<sup>3</sup> в микропробирки эппендорфы или ампулы и в закрытом виде хранят при (– 18) – (– 20) °С в морозильнике без применения консерванта.



Экспериментальной оценкой аллергенной активности полученных экстрактов из органической пыли смешанного, растительного и животного происхождения на классической модели воспроизведения и выявления сенсибилизации на чувствительных лабораторных животных морских свинках-альбиносах и на модели сенсибилизации белых мышей при внутрикожном введении изучаемого экстракта в смеси с иммуномодулятором полным адъювантом Фрейнда установлено формирование в организме опытных животных выраженных механизмов аллергических реакций всех 4-х типов. Причем, как правило, экстракты из пыли смешанного и животного происхождения проявляют сильную аллергенную активность **(1 класс)**, а из растительной пыли – выраженную **(2 класс)**. Результаты экспериментов являются доказательством адекватности использованного метода для получения из образцов разных видов промышленной органической пыли полноценных антигенных комплексов, обладающих высокой аллергенной способностью.





Следовательно, полученные экстракты можно использовать в качестве тест-аллергенов в этиологической лабораторной аллергодиагностике. Установление положительных результатов используемого в иммунологической лаборатории комплекса специфических клеточных или серологических аллергодиагностических методов, основанных на инкубации/культивировании лейкоцитов и/или сыворотки крови обследуемого работника с полученным экстрактом из конкретного образца пыли в обоснованных оптимальных дозах по 100–300 мкг/см<sup>3</sup> по белку и отражающих разные механизмы аллергических реакций, является подтверждением этиологии данной пыли в развитии аллергического заболевания у работника и доказательством его профессионального генеза.